



TITLE:

4-2 霊長類における酸味受容体の同定と味覚修飾物質による酸味抑制機構の解明(X.共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

石丸, 喜朗; 秋場, 雅人

CITATION:

石丸, 喜朗 ...[et al]. 4-2 霊長類における酸味受容体の同定と味覚修飾物質による酸味抑制機構の解明(X.共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2009, 39: 107-108

ISSUE DATE:

2009-09-10

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/166694>

RIGHT:

ニホンザルのアカンボウは、生後まもないころからコンタクトコールを用いて他個体と関わり合うが、生後3ヵ月ごろまでに、毛づくろい交渉においてもこのような音声を用いるようになる。ニホンザルは、声の上げ下げや応答のタイミングを学習するといわれているが、文脈に適した音声使用についても学習することが示唆された。

3-2 発達障害児のコミュニケーションに療育が及ぼす効果の検討

田村綾菜（京都大・院・教育）

対応者：正高信男

本研究は、療育プログラムに参加する発達障害児を対象に、療育での経験を通して、他者とのコミュニケーションにどのような変化が現れるのかを検討することを目的としている。発達障害児の中には、特有の社会性のために、学校環境における人間関係の形成などに困難がある場合も多い。対象となる児童が参加する療育プログラムは、学習に困難を持つ児童を対象としたものであり、主な内容はパソコン課題などを用いた学習支援である。しかし、参加する児童にとっては、療育者やボランティアなどとのやりとりを通して、他者とのコミュニケーションの経験を積む貴重な機会ともなっている。そこでまず、今年度は、療育プログラムに参加している児童（小学2年生、男子5名）のコミュニケーション特性について把握するため、主に療育場面における療育者とのやりとりを観察した。また、コミュニケーション場面における言葉の理解を測る課題を実施した。その結果、コミュニケーション特性や言葉の理解には個人差が大きく、それぞれに応じたコミュニケーション支援の必要性が示唆された。今後、さらに対象者の数を増やし、縦断的にデータを蓄積・分析する予定である。

4-1 ヒト・チンパンジー間におけるエピゲノム・バリエーションの網羅的解析

一柳健司、佐々木裕之、新田洋久（国立遺伝学研究所）

対応者：平井啓久

ヒト・チンパンジーゲノム間の塩基配列の違いはわずか1%強であるが、表現型には大きな違いがある。本研究では、表現型や遺伝子発現と関連の深いDNAメチル化パターンにどの程度、どのような遺伝子で相違があるか、またそのようなエピジェネティックな相違とゲノム配列の相違（ジェネティックな相違）にはどのような関係があるのかを明らかにするため、チンパンジーおよ

びヒト白血球細胞のDNAを解析した。チンパンジー標本には4個体の雌（プチ、ペンディーサ、アイ、クロエ）の血液標本を用いた。ヒト血液標本は国立遺伝学研究所にて得た。これらの血液標本からゲノムDNAを調製し、抗メチル化シトシン抗体を用いて、メチル化DNA断片を免疫沈降した。免疫沈降サンプルをヒトゲノムタイリングアレイ（染色体21, 22番）で解析することにより、両染色体のDNAメチル化プロファイルを得た。ヒトおよびチンパンジーのプロファイルを比較して、種特異的にメチル化されている領域を200カ所近く同定した。今後はどのような場所にDNAメチル化度合いの差が生じやすいのか、またそのような差異によって表現型、遺伝子発現等の差が生じているのか解析して行く予定である。

4-2 霊長類における酸味受容体の同定と味覚修飾物質による酸味抑制機構の解明

石丸喜朗、秋場雅人（東京大・院・農学生命科学）

対応者：今井啓雄

研究者自身らが発見した酸味受容体候補PKD1L3/PKD2L1と甘味・うま味受容体T1Rファミリーのアカゲザル相同遺伝子の同定と、培養細胞発現系を用いた機能解析を行った。

前年度までに、PKD1L3のN末端細胞外領域がアカゲザル由来で、それ以降の領域がマウス由来であるキメラ体を発現ベクターpDisplayに挿入したコンストラクトを構築していた。このキメラ体PKD1L3をマウスPKD2L1と共にHEK293T細胞に発現させてカルシウムイメージング法による機能解析を行った。その結果、これまで報告されているマウスと同様に、25 mM クエン酸による酸刺激に対して応答した。アカゲザルPKD1L3の機能的なN末端細胞外領域を獲得できたと言える。また、味覚修飾物質クルクリゴ果実抽出物存在下でも酸刺激に対する応答が観察された。この実験結果から酸味抑制機構としては、アカゲザルPKD1L3のN末端細胞外領域以外の領域やPKD2L1に対して作用する可能性と、味覚受容体レベルではなく、味細胞や神経レベルで抑制される可能性が考えられる。

甘味・うま味受容体T1Rファミリーに関しては、前年度にRT-PCR法によって単離したT1R2に加えて、ゲノムDNAを鋳型とし、オーバーラッピングPCR法を用いて6個のエキソン領域を連結させてT1R1とT1R2のコード領域全長を獲得した。T1R3に関しては、依然としてC末端領域に相当するゲノム配列情報が不明の

ため、コード領域全長は得られていない。今後、コンマーマーモセットに関しても、味覚受容体遺伝子群の同定を試みる。

4-3 霊長類アルコール分解酵素遺伝子の重複とクラスターの進化

太田博樹 (東京大・院・創成科学)

対応者: 平井啓久

ヒトのゲノム中には5クラス7アルコール加水分解酵素 (ADH) 遺伝子が存在し、これらは第4番染色体上に並んで位置している。げっし類も5クラス7ADH 遺伝子を持っているが、ヒトではそれぞれのADHが異なる基質活性と組織特異的発現を示すのに対し、げっし類では全ての酵素がヒトより広範囲に (非特異的に) 発現していることが知られている。また、ヒトでは肝臓で特異的に発現する3つのクラスI遺伝子がエタノールの代謝に最もよく関わっているが、げっし類ではクラスI遺伝子が1つしか存在しない。本研究では、霊長類でADH遺伝子がどのように遺伝子重複し、そのクラスターが進化してきたかを明らかにすることを目的とし、旧世界ザル3種、新世界ザル2種、原猿2種とコウモリのADH遺伝子クラスター全体 (ヒトで約380kb) をカバーするBACクローンのショットガン塩基配列決定を行う。

BAC-end 塩基配列決定およびコロニーPCRによりアカゲザル、ミドリザル、コンマーマーモセット、ヨザル、ワオキツネザル、グレイマウスレムール、コウモリのオーバーラップ・クローンをピックアップした。現在までにバブーンのADH遺伝子クラスター全長の決定が完了した。さらにアカゲザル、ミドリザル、ワオキツネザルの各BACクローンのドラフト・アセンブリーが完了している。共同利用で得られる試料は、こうしたアセンブリ確認に用いる。これまでにアカゲザル、ミドリザル、ヨザル、コンマーマーモセットの血液サンプルを採取した (全てオス)。これらから抽出したゲノムDNAを鋳型としたPCRおよび直接塩基配列決定によりGapを埋める作業を行なっている。

4-4 「生体防御系の霊長類比較ゲノム研究と集団ゲノム研究」

安波道郎 (長崎大・国際連携研究戦略本部),

山崎朗子 (長崎大・院・医歯薬総合)

対応者: 平井啓久

マカク属霊長類は、ヒトの疾患モデルとして医学・生物学的な利用価値が高く、そのゲノム情報の収集も進められているが、ヒトと同様にそのゲノムには地理的分

布に基づく、高度な種内の多様性の存在が想定される。

我々はこれまでに免疫遺伝学的な特性の個体差を規定する主要組織適合性複合体(MHC)についての遺伝子解析法を開発し、免疫不全ウイルス(SIV)に対する応答性が分離するアカゲザル家系で古典的MHCクラスIであるMamu-A, Mamu-Bのハプロタイプが共分離することを明らかにした。

また一方、自然抵抗性に関しては、多くの動物種において細菌由来のエンドトキシンに対する受容体であるToll様受容体(TLR) TLR2およびTLR4の遺伝子にアカゲザル、カニクイザル、ニホンザルの3種のマカク属霊長類の種内個体差および種間で高頻度に非同義置換が認められることを明らかにした (発表準備中)。これらの機能的な意味を明らかにするために、ヒトTLR2およびTLR4変異体の機能評価に用いられるHEK293細胞での強制発現系を作製し、見いだしたアミノ酸配列の変化の効果を検討している。

[文献]

Tsukamoto T, Dohki S, Ueno T, Kawada M, Takeda A, Yasunami M, Naruse T, Kimura A, Takiguchi M, Matano T. Determination of a major histocompatibility complex class I restricting simian immunodeficiency virus Gag241-249 epitope. AIDS 22:993-994(2008).

4-5 ヒト内在性レトロウイルスHERV-KのLTRにみる進化的変化

加藤伊陽子 (山梨大・医工学合・医・微生物)

対応者: 平井啓久

HERV-Kの転写機構での進化的変化を調べるためにヒトHERV-KのLTRに関して分子生物学的な解析を実施するとともに、アカゲザル組織での転写レベルを解析し、次の結果を得た。

(1) ヒトHERV-K LTRにはTATA boxを伴う主な転写開始点(Inr)がある。(2) LTRの3'末端でも2つのInrが機能し、アカゲザル、チンパンジー、ヒトで年代順の配列パターンが検出される。(3) MITF (microphthalmia transcription factor)が複数のMITF結合配列を介して、転写誘導する。(4) アカゲザルの組織でのMITFとHERV-Kの発現は相関する。

これら結果はゲノムのHERV-Kの保存・変遷やメラノーマでの高発現の理解に重要である。

学会発表: Katoh, I. et al. Transcriptional control by the long terminal repeat (LTR) of human endogenous retrovirus (HERV)-K preserved in the human and primate genomes. 第81回日本生化学会・第31会日本分子生物学会合同大会 2P-0738, 2008/12/10 神戸